



TITLE:

Hydrodynamic stress stimulates growth of cell clusters via the ANXA1/PI3K/AKT axis in colorectal cancer(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Hagihara, Takeshi

CITATION:

Hagihara, Takeshi. Hydrodynamic stress stimulates growth of cell clusters via the ANXA1/PI3K/AKT axis in colorectal cancer. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22374>

RIGHT:

Once the Article has been published, the Author(s) should update the acknowledgement and provide a link to the definitive version on the publisher's website: "This is a pre-print of an article published in Scientific Reports. The final authenticated version is available online at: [https://doi.org/\[insert DOI予定\]](https://doi.org/[insert DOI予定])".

| | | | |
|--|---|-----|-------|
| 京都大学 | 博士（ 医 学 ） | 氏 名 | 萩 原 健 |
| 論文題目 | Hydrodynamic stress stimulates growth of cell clusters via the ANXA1/PI3K/AKT axis in colorectal cancer （流体力学的ストレスは ANXA1 を誘導し、PI3K/AKT シグナル活性化を介して大腸癌細胞塊の成長を促進する） | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>血流によって生じる流体力学的ストレス(hydrodynamic stress: HDS)は、血中循環腫瘍細胞(circulating tumor cell: CTC)に様々な影響を与え、状況に応じて癌の転移に促進的にあるいは抑制的に作用する。近年は、CTC の中でも単細胞ではなく細胞集団として存在する"CTC cluster"が転移を形成する上でより重要であると報告されている。しかし従来の HDS モデルでは接着細胞や浮遊単細胞が用いられており、CTC cluster のモデルとなりうる浮遊状態の癌細胞塊における HDS の影響を報告した文献は少ない。</p> <p>そこで、本研究では患者由来の癌細胞を用いた三次元オルガノイド培養法の一つである cancer tissue-originated spheroid method (CTOS 法)を用い、浮遊状態の大腸癌細胞塊が受ける HDS の影響について検討を行った。HDS の印加には、シリンジに装着した 27G 針を通過させる"シリンジ通過法"とガス交換可能な 15ml チューブを約 30rpm で回転して培養する"回転培養法"を用い、それぞれ、強い瞬間的 HDS と弱い持続的 HDS について細胞増殖に対する影響を評価した。</p> <p>まず、癌細胞塊(CTOS)にシリンジ通過法により瞬間的な HDS を与えると、細胞増殖が 1.2 倍程度促進されることを見出した。さらに、2 週間にわたり反復して瞬間的な HDS を与える、もしくは持続的 HDS を与えることにより、細胞増殖は最大で 2.5 倍程度まで促進され、HDS による増殖促進効果は蓄積されることが明らかとなった。複数の患者由来の大腸癌 CTOS で検討したところ、6 例中 4 例の大腸癌 CTOS でこの現象が確認された。なお、細胞塊を単細胞に分散した後に HDS を与えても増殖は促進されず、このような HDS による増殖促進は細胞塊においてのみ認められる現象であった。</p> <p>次に、HDS による増殖促進の分子機序について検討を行った。HDS は細胞膜障害を引き起こすことが知られているが、毒素蛋白ストレプトリシン O により HDS を伴わない細胞膜障害を誘発しても、癌細胞塊の増殖が促進された。このことから、細胞膜障害が HDS による増殖促進に関与していると推測された。そこでマイクロアレイ解析を行い、HDS 後に発現上昇する遺伝子の一つとして、細胞膜修復に関わる AnnexinA1 (ANXA1)を抽出した。この ANXA1 を shRNA によりノックダウンすると、大腸癌 CTOS における HDS 後の増殖促進は抑制された。一方、HDS 後の増殖が見られない症例の CTOS において、外因性の ANXA1 を過剰発現すると、HDS により増殖が促進された。以上より、HDS による癌細胞塊の増殖促進への ANXA1 の関与が示唆された。</p> <p>ANXA1 の下流には、癌種や環境により異なる様々なシグナル経路の活性化が報告されているが、HDS 後の大腸癌 CTOS では著明な AKT リン酸化の誘導を認めた。PI3K 阻害剤(GDC-0941)で処理した CTOS に HDS を印加したところ、HDS 後の増殖促進効果は抑制された。即ち、HDS による癌細胞塊の増殖促進は PI3K/AKT 経路の活性化を介することが示された。</p> <p>以上の結果より、浮遊状態の大腸癌細胞塊は HDS により PI3K/AKT 経路を介した増殖促進をきたし得ることが明らかとなり、CTC cluster による癌転移に HDS が促進的に作用することが示唆された。</p> | | | |

| |
|--|
| (論文審査の結果の要旨) 流体力学的ストレス(hydrodynamic stress: HDS)は、血中循環腫瘍細胞(circulating tumor cell: CTC)に様々な影響を与える。近年、CTC の中でも単細胞ではなく細胞集団として存在する” CTC cluster” が転移を形成する上でより重要であると報告されている。申請者らは CTC cluster のモデルとなりうる浮遊状態の癌細胞塊における HDS の影響について検討を行った。 患者由来の大腸癌細胞塊に瞬間的な HDS もしくは持続的な HDS を印加すると細胞増殖が促進されることを見出した。さらに HDS による細胞膜障害が増殖促進に関与していることを見出し、マイクロアレイ解析により細胞膜修復に関わる AnnexinA1 (ANXA1)に注目した。ANXA1 をノックダウンすると HDS 後の増殖促進は抑制され、ANXA1 を過剰発現すると HDS 後の増殖促進は増強された。つまり HDS 後の増殖促進に ANXA1 が重要であることを示した。HDS 後に著明な AKT リン酸化の誘導を認めたが、ANXA1 をノックダウンすると、その誘導は抑制された。また PI3K 阻害剤により HDS 後の増殖促進効果は抑制された。即ち、HDS による癌細胞塊の増殖促進は PI3K/AKT 経路の活性化を介することを示した。 以上の結果より、浮遊状態の大腸癌細胞塊は HDS により ANXA1 が誘導され PI3K/AKT 経路を介した増殖促進をきたし得ることが明らかとなり、HDS が CTC cluster による癌転移に促進的に作用することが示唆された。 以上の研究は血管内での大腸癌細胞塊の挙動の解明に貢献し大腸癌に対する新たな治療戦略に寄与するところが多い。 したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 2 月 2 6 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。 |
| 要旨公開可能日： 年 月 日 以降 |